

Τα φυσικά φονικά κύτταρα στο καρκίνωμα του παχέος εντέρου: Κλινικο-Παθολογοανατομική Μελέτη

Ι.Σ. Παπανικολάου, Α.Χ. Λάζαρης, Ν. Καβανιζάς, Α. Αρχιμανδρίτης,
Ι. Ελευσινιώτης, Ε. Γιαννακουλοπούλου, Α. Λαμπρινού, Π.Σ. Δάβαρης

The immunohistochemical detection of natural killer cells in colorectal adenocarcinoma

I.S. Papanikolaou, A.Ch. Lazaris, N. Kavantzias, A. Lambrinou,
A. Archimandritis, P.S. Davaris

Dept. of Pathology, The Athens National University Medical Faculty

Aim: Colorectal carcinoma is considered to be a model of a human neoplasm, in which prognosis is mainly determined by histological stage. However, in spite of this fact, the prognosis of certain patient subgroups in carcinoma of the colon and rectum remains vague. This applies especially for patients of intermediate stages (Dukes B and C). Therefore, the development and clinical application of new prognostic markers of the disease is essential; markers of the host's immune response could potentially be used as such. **Material - Methods:** In the present immunohistochemical study, we investigated the presence of CD57 (the natural killer cell-like marker) in a panel of 82 cases of colon adenocarcinoma of various stages, grades and sizes. The marker was stained with an appropriate monoclonal antibody which was applied to paraffin-embedded tissue sections from the tumour samples. The percentage of the positively stained cells in each case was evaluated by image analysis. **Results:** Expression of CD57 was not related to any of the epidemiological or histologic characteristics of the examined cases, except for an inverse association between the expression of the marker at the primary tumour site and patients' age. **Conclusions:** The findings of this study suggest that less natural killer cells are found in the stroma of the primary tumour site in older patients. This could possibly be attributed to decreased adhesion molecule-mediated migration.

Keywords: Natural killer cells, colorectal carcinoma, immunohistochemistry, immune response

Τα φυσικά φονικά (NK) κύτταρα ανήκουν στα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά ασκούν κυτταροτοξική δράση, αποτελώντας την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού κατά της νεοπλασίας. Εκφράζουν στην επιφάνειά τους μια σειρά δεικτών, ανάμεσα στους οποίους και το μόριο CD57, που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίησή τους σε ανοσοϊστοχημικές μελέτες. **Σκοπός:** Μελέτη της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του δείκτη των φυσικών φονικών κυττάρων CD57 σε μια σειρά καρκινωμάτων παχέος εντέρου. **Υλικό-Μέθοδος:** Μελετήθηκαν 82 περιπτώσεις καρκινωμάτων παχέος εντέρου. Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική ανάλυση 3 σταδίων (ABCComplex) με μονοκλωνικό αντίσωμα με ειδικότητα ανάλογη του Leu-7. Τα περιστατικά αξιολογήθηκαν ως προς τις παραμέτρους: φύλο, ηλικία, εντόπιση, μέγεθος, βαθμός διαφοροποίησης και στάδιο κατά Dukes κάθε όγκου, διήθηση του εντερικού τοιχώματος και παρουσία μεταστάσεων. **Αποτελέσματα:** Ο δείκτης εκφράσθηκε σε 79 περιπτώσεις, σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 0,1-32% των λεμφοκυττάρων των πρωτοπαδών εστιών. Από τις 33 περιπτώσεις μεταστατικού καρκινώματος, ο δείκτης εκφράσθηκε σε μεταστατικώς διηθημένους λεμφαδένες στις 27 (~81,8%), σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 0,1-26% των λεμφοκυττάρων των μεταστατικών εστιών ενώ οι υπόλοιπες 6 περιπτώσεις (~18,2%) δεν εξέφραζαν καθόλου το δείκτη. Επίσης, ο δείκτης εκφράσθηκε στα λεμφοκύτταρα 3 ηπατικών μεταστατικών εστιών από τις 4 συνολικά περιπτώσεις σταδίου "D" κατά Dukes του δείγματος. Η παρουσία κυττάρων NK συσχετίσθηκε στατιστικά μόνο με την ηλικία, όπου διαπιστώθηκε αρνητική συσχέτιση αυτής με την έκφραση κυττάρων NK στην πρωτοπαδή εστία (μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney, $p=0,031$). **Συμπεράσματα:** Η αρνητική συσχέτιση της έκφρασης του δείκτη στην πρωτοπαδή εστία με την ηλικία υποδηλώνει μείωση της ικανότητας των κυττάρων NK για μετανάστευση από τα αγγεία προς το στρώμα του όγκου στις μεγαλύτερες ηλικίες, πιθανώς σχετιζόμενη με την πτωχότερη έκφραση των καταλλήλων μορίων κυτταρικής προσκόλλησης που παρατηρείται στις ηλικίες αυτές.

Λέξεις-κλειδιά: Φυσικά φονικά κύτταρα, αδενοκαρκίνωμα παχέος εντέρου, ανοσοϊστοχημεία, ανοσιακή αντίδραση

ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΣΚΟΠΟΣ

Το καρκίνωμα του παχέος εντέρου (ΚΠΕ) αποτελεί σημαντικό πρόβλημα της παγκόσμιας Δημόσιας Υγείας, καθώς συνιστά τη δεύτερη σε συχνότητα νεοπλασία και το δεύτερο πιο συχνό αίτιο θανάτου από νεόπλασμα στο δυτικό κόσμο¹. Η μελέτη των διεργασιών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και τη διασπορά του ΚΠΕ, καθώς και των διαφόρων αμυντικών μηχανισμών που επιστρατεύει ο οργανισμός στην προσπάθειά του να αμυνθεί στην εξάπλωση του όγκου, είναι απαραίτητες προϋποθέσεις προκειμένου να καρποφορήσουν οι προσπάθειες για μια πιο επιτυχή αντιμετώπιση της νόσου. Διάφορα κύτταρα και μόρια που σχετίζονται με τις διεργασίες και τους μηχανισμούς αυτούς, μελετώνται και δοκιμάζονται ως προς το αν μπορούν να αποτελέσουν προγνωστικούς

δείκτες. Παράλληλα, γίνονται ερευνητικές προσπάθειες με σκοπό να διαλευκανθεί η σημασία και άλλων παραγόντων που παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες διεργασίες της καρκινογένεσης. Τέτοιοι παράγοντες θεωρούνται τα μόρια προσκόλλησης, τα οποία πιστεύεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του ΚΠΕ, γιατί η δράση τους υπεισέρχεται σε ορισμένες καθοριστικές παραμέτρους της αλληλεπίδρασης νεοπλάσματος-ξενιστή σε διάφορα στάδια, ιδίως τη μετάσταση και την ανοσιακή αντίδραση του οργανισμού.

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (κύτταρα NK, natural killer cells) ανήκουν στα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα και εκφράζουν διάφορους δείκτες επιφανείας, ενώ δεν εκφράζουν τους ειδικούς δείκτες επιφανείας των Β- ή των Τ-λεμφοκυττάρων. Ένας από τους χαρακτηριστι-

κότερους είναι το μόριο CD57, που έχει ήδη χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίησή των κυττάρων NK σε ανοσοϊστοχημικές μελέτες^{2,3}. Τα κύτταρα NK επιτελούν κυτταροτοξική δράση στο ΚΠΕ, αποτελούν δε την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού κατά της νεοπλασίας^{2,3,4}. Παρότι συνιστούν μικρό ποσοστό στις λεμφοκυτταρικές διηθήσεις του ΚΠΕ, τα κύτταρα NK αποτελούν σημαντικό δείκτη ανοσιακής αντίδρασης απέναντι στο νεόπλασμα με θετική προγνωστική αξία³. Στη δράση τους φαίνεται ότι εμπλέκονται μόρια προσκόλλησης, γεγονός που τονίζει την αλληλεπίδρασή τους με άλλους παράγοντες⁴.

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση των θετικών στο δείκτη CD57 κυττάρων NK σε μια καλώς μελετημένη σειρά ΚΠΕ, καθώς και η πιθανή σχέση του μορίου αυτού με διάφορους κλασικούς κλινικο-παθολογοανατομικούς προγνωστικούς δείκτες.

ΥΛΙΚΟ

Εξετάσθηκαν 82 περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου συνήθους ιστολογικού τύπου, από ασθενείς που είχαν υποστεί κολεκτομή κατά τα έτη 1996-1999. Στο σύνολο των περιπτώσεων επαναξιολογήθηκαν όλες οι διαθέσιμες τομές αιματοξυλίνης-ηωσίνης.

Επελέγη για ανοσοϊστοχημική επεξεργασία από κάθε περιστατικό, ο κύβος παραφίνης που περιείχε αντιπροσωπευτική δέση της πρωτοπαδούς εστίας.

Τα περιστατικά αξιολογήθηκαν ως προς τις εξής παραμέτρους: φύλο (άνδρες: 52, γυναίκες: 30, 63,4% και 36,6% αντιστοίχως), ηλικία (μέση ηλικία: 72,9 έτη, διάμεση ηλικία: 75 έτη, ηλικιακό εύρος: 35-95 έτη), εντόπιση του όγκου (ορθό: 27 ~32,9%, σιγμοειδές: 26 ~31,7%, κατάν: 4 ~4,8%, εγκάρσιο: 5 ~6%, ανιόν: 10 ~12,1%, τυφλό: 10 ~12,1%), μέγεθος (μέση μέγιστη διάμετρος: 4,4 εκ., διάμεση μέγιστη διάμετρος: 4 εκ., εύρος διαμέτρου όγκου: 1,2-10 εκ.), βαθμός διαφοροποίησης (24 καλής διαφοροποίησης = 29,3%, 48 μέτριας διαφοροποίησης = 58,5% και 10 κακής διαφοροποίησης = 12,2% αντιστοίχως) και στάδιο κατά Dukes κάθε όγκου (A: 5, B: 44, C: 29, D: 4, ποσοστά 6,1%, 53,7%, 35,4% και 4,9% αντιστοίχως), διήθηση του τοιχώματος (66 παρουσίαζαν διατοικωματική επέκταση -διήθηση και πέραν του μυϊκού χιτώνα του εντερικού τοιχώματος- ενώ 16 δεν

παρουσίαζαν διατοικωματική επέκταση, ποσοστά 80,5% και 19,5% αντιστοίχως) και χορήγηση λεμφογενών μεταστάσεων (49 περιπτώσεις δεν είχαν διηθημένους λεμφαδένες, ενώ 33 περιπτώσεις παρουσίαζαν διηθημένους λεμφαδένες, ποσοστά 59,75% και 40,25% αντιστοίχως). Για λόγους ενίσχυσης της αξιοπιστίας της στατιστικής ανάλυσης, οι διάφορες επιμέρους εντοπίσεις των αδενοκαρκινωμάτων, συγκεντρώθηκαν σε 2 ομάδες: αριστερό κόλον και ορθό (57 περιπτώσεις, ~69,5%) και δεξιό κόλον (25 περιπτώσεις, ~30,5%).

ΜΕΘΟΔΟΙ

Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική χρώση 3 σταδίων (ABCComplex) σε ιστολογικές τομές παραφίνης. Χρησιμοποιήθηκε ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα αντίστοιχο του Leu-7 για το δείκτη CD57 (Dako, Glostrup, Denmark) σε διάλυση 1/200, με ολονύκτια επώαση. Η αποκάλυψη αντιγονικών επιτόπων ήταν απαραίτητη και έγινε με κατεργασία σε φούρνο μικροκυμάτων.

Ως θετικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές υπερτροφικής αμυγδαλής. Ως εναλλακτικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές οι οποίες δεν επωάσθηκαν με το πρωτογενές αντίσωμα. Ως χρωμογόνο χρησιμοποιήθηκε διαμινοβενζιδίνη, διαλυμένη κατά 0,06% σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS, το οποίο περιείχε υπεροξειδίο του υδρογόνου 0,03%.

Το ποσοστό των ανοσοθετικών για το δείκτη CD57 κυττάρων αξιολογήθηκε για κάθε περίπτωση με τη μέθοδο της ανάλυσης εικόνας. Η διάταξη της ανάλυσης εικόνας περιελάμβανε μικροσκόπιο Zeiss Axiolab (Carl Zeiss GmbH, Jena, Germany) με συνδεδεμένη CCD βιντεοκάμερα SONY-iris (SONY corp., Tokyo, Japan) και εν σειρά συνδεδεμένο ηλεκτρονικό υπολογιστή Pentium II, με το κατάλληλο λογισμικό (Sigma Scan Pro, Science, Erkrath, Germany). Οι εικόνες μελετήθηκαν σε μεγέθυνση x200 και ακολούθως μέσω του προγράμματος ανάλυσης εικόνας υπολογίσθηκε το επί τοις εκατό (%) ποσοστό των θετικά χρωσθέντων κυττάρων επί συνόλου 500 τουλάχιστον λεμφοκυττάρων (χρωσθέντων και μη).

Για τη στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, ο δείκτης CD57 κατηγοριοποιήθηκε σε "αρνητικά" και θετικά περιστατικά ανάλογα με την ποσοτική έκφρασή του. Το όριο ορίσθηκε στο 4% (μηδαμινή παρουσία κυττάρων NK),

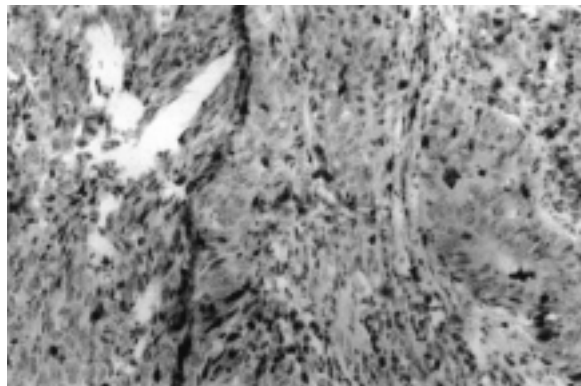
το οποίο θεωρήθηκε ότι συμβαδίζει με την ποιοτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Περιστατικά με ποσοστό $\geq 5\%$ θεωρήθηκαν θετικά. Η αξιολόγηση βασίστηκε στην δοκιμασία χ^2 για τις συσχετίσεις μεταξύ του δείκτη και των παραμέτρων: φύλο, εντόπιση, διαφοροποίηση, διατονωματική επέκταση, παρουσία μεταστατικών διηθημένων λεμφαδένων και στάδιο της νόσου κατά Dukes. Η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ CD57 με την ηλικία του ασθενούς και το μέγεθος του όγκου βασίστηκε στην μη παραμετρική δοκιμασία Mann Whitney.

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο δείκτης εκφράστηκε σε 79 περιπτώσεις πρωτοπαθών όγκων, σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 0,1-32% των λεμφοκυττάρων των πρωτοπαθών εστιών (Εικόνα 1). Από τις 33 περιπτώσεις μεταστατικού αδενοκαρκινώματος, ο δείκτης εκφράστηκε σε μεταστατικώς διηθημένους λεμφαδένες στις 27 (ποσοστό ~81,8%), σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 0,1-26% των λεμφοκυττάρων των μεταστατικών εστιών, ενώ οι υπόλοιπες 6 περιπτώσεις (~18,2%) δεν εξέφραζαν το δείκτη. Επίσης, ο δείκτης εκφράστηκε στα λεμφοκύτταρα 3 ηπατικών μεταστατικών εστιών από τις 4 συνολικά περιπτώσεις σταδίου "D" κατά Dukes του δείγματος.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, για λόγους ερμηνείας της ανοσοθετικότητας, αλλά και αξιοπιστίας της στατιστικής ανάλυσης, η ανο-

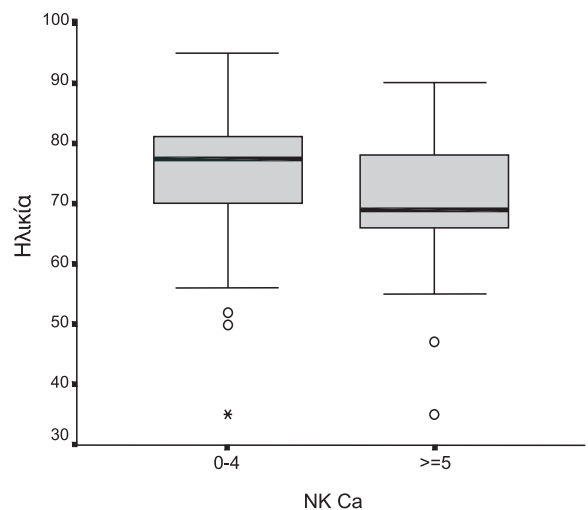


Εικόνα 1. Έντονη παρουσία NK-κυττάρων ανάμεσα σε καρκινικούς σχηματισμούς (ABC, μεγέθυνση x400). Ανοσοϊστοχημική χρώση με μονοκλωνικό αντίσωμα για το δείκτη CD57.

σοδετικότητα διακρίθηκε σε 2 ομάδες: 0-4% (μηδαμινή έκφραση του δείκτη) και $\geq 5\%$ (ικανή έκφραση). Στην πρώτη ομάδα από τους 82 πρωτοπαθείς όγκους ανήκαν οι 49 περιπτώσεις (59,8%) ενώ στη δεύτερη ομάδα οι 33 περιπτώσεις (40,2%). Από τα 33 μεταστατικά αδενοκαρκινώματα, η έκφραση του δείκτη στις λεμφαδενικές μεταστατικές εστίες σε 18 περιπτώσεις ήταν μηδαμινή και σε 15 περιπτώσεις ήταν ικανή (το 54,5% δηλαδή ανήκαν στην πρώτη και το 45,5% στη δεύτερη από τις ομάδες που αναφέρθηκαν).

Η έκφραση του CD-57 στην πρωτοπαθή εστία δε συσχετίστηκε με το φύλο (δοκιμασία χ^2 , $p=0,462$), την εντόπιση (δοκιμασία χ^2 , $p=0,262$), τη διαφοροποίηση (δοκιμασία χ^2 , $p=0,556$), τη διατονωματική επέκταση (δοκιμασία χ^2 , $p=0,999$), την παρουσία μεταστατικής νόσου (δοκιμασία χ^2 , $p=0,720$), ή το στάδιο κατά Dukes (δοκιμασία χ^2 , $p=0,992$). Η έκφραση του δείκτη στην πρωτοπαθή εστία συσχετίστηκε ανάστροφα με την ηλικία (Διάγραμμα 1), ενώ δε συσχετίστηκε με το μέγεθος του όγκου (μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney, $p=0,031$ και $p=0,377$ αντιστοίχως).

Η έκφραση του CD57 σε μεταστατικώς διηθημένους λεμφαδένες δε συσχετίστηκε με το φύλο (δοκιμασία χ^2 , $p=0,999$), την εντόπιση (δοκιμασία χ^2 , $p=0,442$), τη διαφοροποίηση (δοκιμασία χ^2 , $p=0,872$), τη διατονωματική επέ-



Διάγραμμα 1. Σχηματική παράσταση όπου φαίνεται ότι η ηλικία σχετίζεται ανάστροφα με την ανοσοθετικότητα για το δείκτη CD57 στην πρωτοπαθή εστία (NK Ca).

κταση (δοκιμασία χ^2 , $p=0,999$), ή το στάδιο κατά Dukes (C ή D) (δοκιμασία χ^2 , $p=0,308$). Η έκφραση του δείκτη σε μεταστατικά διηθημένους λεμφαδένες δε συσχετίσθηκε με την ηλικία και το μέγεθος του όγκου (μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney, $p=0,212$ και $p=0,729$ αντιστοίχως).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αναγκαιότητα ανεύρεσης μορίων-δεικτών που να συμπληρώνουν τα χρησιμοποιούμενα συστήματα σταδιοποίησης, προκύπτει από την αδυναμία των τελευταίων να προβλέψουν την επιβίωση ορισμένων υποομάδων ασθενών με ΚΠΕ που παρουσιάζουν ετερογενή κλινική πορεία (κυρίως σταδίων Β και C κατά Dukes)⁵. Στην προσπάθεια ανεύρεσης τέτοιων δεικτών, χρησιμοποιούνται ανοσοϊστοχημικές τεχνικές. Ο απώτερος στόχος τέτοιων δεικτών είναι κυρίως ο καθορισμός της κατάλληλης εξατομικευμένης θεραπευτικής αγωγής, αλλά και της ακριβέστερης εξατομικευμένης πρόγνωσης της νόσου.

Το μόριο CD57 επιλέχθηκε με βάση το κριτήριο ότι χαρακτηρίζει μια κυτταρική σειρά που θα μπορούσε να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του ΚΠΕ, αλλά της οποίας η ανοσοϊστοχημική έκφραση δεν έχει επαρκώς μελετηθεί στο ΚΠΕ, ούτε έχει συσχετισθεί με τους κλασικούς παθολογοανατομικούς προγνωστικούς παράγοντες (όπως το στάδιο, ή το βαθμό διαφοροποίησης).

Ο δείκτης εκφράσθηκε σε ικανό ποσοστό περιπτώσεων του δείγματος, τόσο στην πρωτοπαθή εστία, όσο και στους μεταστατικά διηθημένους λεμφαδένες. Το ποσοστό της εκπροσώπησης των CD57 δεικτών λεμφοκυττάρων στο λεμφοκυτταρικό διήθημα των περιπτώσεών μας κυμάνθηκε σε επίπεδα που συμφωνούν με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας². Η έκφραση του CD57 δε φάνηκε να σχετίζεται ούτε με τις κλασικές παθολογοανατομικές προγνωστικές παραμέτρους, ούτε και με τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά του δείγματός μας, πλην της ηλικίας. Διαπιστώθηκε ανάστροφη σχέση της ηλικίας με την έκφραση του δείκτη στην πρωτοπαθή εστία.

Οι διάφορες μεταβολές που παρατηρούνται, τόσο ως προς τον αριθμό, αλλά και ως προς την κυτταροτοξικότητα των κυττάρων NK έχουν απασχολήσει αρκετά την πρόσφατη βιβλιογραφία⁶⁻¹³. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι τα αποτε-

λέσματα των μελετών αυτών δεν είναι πάντοτε συγκρίσιμα, είτε λόγω των διαφορετικών παραμέτρων που λαμβάνονται υπόψη για να αξιολογηθεί η κυτταροτοξικότητα των κυττάρων NK, είτε λόγω των διαφορετικών δειγμάτων ασθενών. Έτσι, τα αποτελέσματα των μελετών αυτών συχνά είναι αντικρουόμενα⁶. Στις περισσότερες από αυτές, διαπιστώνεται μια αύξηση του αριθμού των κυττάρων NK που κυκλοφορούν στο αίμα εις βάρος άλλων σειρών λεμφοκυττάρων [όπως τα CD8(+)] με την πάροδο της ηλικίας^{6,9,13}, παρότι σε άλλες ο αριθμός τους θεωρείται ότι παραμένει σταθερός^{10,11}, ενώ μειώνονται κάποιοι δραστικοί υποπληθυσμοί τους¹⁰. Ως προς τη δραστικότητα των κυττάρων NK, αυτή έχει θεωρηθεί ότι μπορεί να μειώνεται¹¹, να παραμένει σταθερή^{8,13}, ή και να αυξάνει¹² με την αύξηση της ηλικίας. Κάποιες μελέτες όμως, τονίζουν τη σημασία διατροφικών στοιχείων (βιταμίνες όπως οι C, D και E, καθώς και ιχνοστοιχεία, όπως ο ψευδάργυρος και το σελήνιο) και ενδοκρινικών παραγόντων στη διατήρηση της δραστικότητας αυτής⁶⁻⁸.

Όπως καταδεικνύεται στη διεθνή βιβλιογραφία, σημαντικός παράγοντας για να εκδηλώσουν τα κύτταρα NK την κυτταροτοξική τους δράση στο ΚΠΕ είναι η ικανοποιητική έκφραση των καταλλήλων μορίων προσκόλλησης στην επιφάνειά τους, που σχετίζεται άμεσα με τη δυνατότητα του οργανισμού να τα κινητοποιήσει έγκαιρα και αποτελεσματικά. Τα μόρια προσκόλλησης αποτελούν μια ομάδα πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης με κύριες λειτουργίες τους τη ρύθμιση της προσκόλλησης, της επικοινωνίας, αλλά και της συνεργασίας μεταξύ των κυττάρων. Παράλληλα, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στις διεργασίες που σχετίζονται με τη μετακίνηση κυττάρων. Στην οικογένεια των μορίων προσκόλλησης ανήκουν μόρια όπως τα CD11a/CD18 (LFA-1), CD2, CD7, CD27, CD28 και CD44, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την έγκαιρη έξοδο ικανού αριθμού NK-κυττάρων από τα αγγεία προς το στρώμα του όγκου, καθώς και την αποτελεσματική επαφή τους με τα καρκινικά κύτταρα^{2,4,14,15}. Η παρατήρηση αυτή θα μπορούσε να ερμηνεύσει και την ανάστροφη σχέση της παρουσίας των NK-κυττάρων στο δείγμα μας με την ηλικία, μια και έχει παρατηρηθεί μειωμένη έκφραση μορίων προσκόλλησης -τόσο στο διάμεσο ιστό, όσο και σε υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων- προϊούσης της ηλικίας^{16,17}. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως συνεπάγεται μειω-

μένη ικανότητα μετανάστευσης των κυττάρων NK από τον ενδοαγγειακό χώρο προς το στρώμα του όγκου στους ασθενείς προχωρημένων ηλικιών.

Φαίνεται λοιπόν ότι ενώ τα βιβλιογραφικά δεδομένα δεν είναι απολύτως ξεκάθαρα ως προς τις μεταβολές της δραστηριότητας και του αριθμού των κυττάρων NK με την ηλικία, η παρατήρηση ότι στο δείγμα μας οι μεγαλύτερες ηλικίες παρουσιάζουν μικρότερα ποσοστά παρουσίας κυττάρων NK στο στρώμα του όγκου μπορεί να σχετίζεται με μείωση της ικανότητας των εν λόγω κυττάρων για μετανάστευση στις ηλικίες αυτές, λόγω πτωχότερης έκφρασης των καταλλήλων μορίων προσκόλλησης. Βεβαίως, η πρόγνωση των ασθενών τελικά θα επηρεασθεί και από άλλους παράγοντες. Άλλωστε, είναι γνωστό ότι όγκοι σε μεγαλύτερες ηλικίες συχνά παρουσιάζουν βραδύτερο ρυθμό ανάπτυξης και μικρότερη επιδετικότητα.

Επομένως από την παρούσα μελέτη τονίζεται ότι η έκφραση του δείκτη CD57 των κυττάρων NK δε φαίνεται να σχετίζεται με τους κλασικούς παθολογοανατομικούς προγνωστικούς παράγοντες στο ΚΠΕ. Η έκφραση του δείκτη στην πρωτοπαθή εστία παρουσιάζει ανάστροφη σχέση με την ηλικία του ασθενούς, γεγονός που πιθανώς να υποδηλώνει μείωση της ικανότητας των κυττάρων NK για μετανάστευση από τα αγγεία προς το στρώμα του όγκου στις μεγαλύτερες ηλικίες, οφειλόμενη στην πτωχότερη έκφραση καταλλήλων μορίων προσκόλλησης στις ηλικίες αυτές.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα ευρήματα της παρούσας μελέτης θα μπορούσαν να τονισθούν τα παρακάτω σημεία:

- Η έκφραση του δείκτη CD57 των κυττάρων NK δε σχετίζεται με κάποιον από τους κλασικούς παθολογοανατομικούς προγνωστικούς παράγοντες στο ΚΠΕ.
- Η έκφραση του CD57 στην πρωτοπαθή εστία παρουσιάζει ανάστροφη σχέση με την ηλικία του ασθενούς, παρατήρηση που πιθανώς να υποδηλώνει μείωση της ικανότητας των κυττάρων NK για μετανάστευση από τα αγγεία προς το στρώμα του όγκου στις μεγαλύτερες ηλικίες, λόγω πτωχότερης έκφρασης καταλλήλων μορίων προσκόλλησης στις ηλικίες αυτές.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Renehan AG, Egger M, Saunders MP, O'Dwyer ST. Impact on survival of intensive follow up after curative resection for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 324:813, 2002.
2. Lydyard PM, Grossi CE. Cells, tissues and organs of the immune system. In: Roitt I, Brostoff J, Male D (eds.), *Immunology*. 6th ed, Mosby, London, 2001:15-45.
3. Coca S, Perez-Piqueras J, Martinez D, Colmenarejo A, Saez MA, Vallejo C, et al. The prognostic significance of intratumoral natural killer cells in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 79:2320-2328, 1997.
4. Luo D, Vermijlen D, Vanderkerken K, Kuppen PJ, Seynaeve C, Eddouks M, et al. Involvement of LFA-1 in hepatic NK cell (pit cell)-mediated cytolysis and apoptosis of colon carcinoma cells. *J Hepatol* 31:110-116, 1999.
5. Owen DA, Kelly JK. Large intestine and anus. In: Damjanov I, Linder J (eds.) *Anderson's Pathology*. 10th ed, Mosby, St. Louis, 1996:1741-1778.
6. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Bastagli L, Facchini A, Mariani E, et al. Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged ≥ 90 y. *Am J Clin Nutr* 71:590-598, 2000.
7. Chandra RK. Effect of vitamin and trace-element supplementation on immune responses and infection in elderly subjects. *Lancet* 340:1124-1127, 1992.
8. Solerte SB, Fioravanti M, Vignati G, Giustina A, Cravello L, Ferrari E. Dehydroepiandrosterone sulfate enhances natural killer cell cytotoxicity in humans via locally generated immunoreactive insulin-like growth factor I. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3260-3267, 1999.
9. Xu X, Beckman I, Ahern M, Bradley J. A comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in healthy aged humans by flow cytometry. *Immunol Cell Biol* 71:549-557, 1993.
10. Bender BS, Chrest FJ, Adler WH. Phenotypic expression of natural killer cell associated membrane antigens and cytolytic function of peripheral blood cells from different aged humans. *J Clin Lab Immunol* 21:31-36, 1986.
11. Ogata K, Yokose N, Tamura H, An E, Nakamura K, Dan K, et al. Natural killer cells in the late decades of human life. *Clin Immunol Immunopathol* 84:269-275, 1997.
12. Kutza J, Murasko DM. Effects of aging on natural killer cell activity and activation by interleukin-2 and IFN-alpha. *Cell Immunol* 155:195-204, 1994.
13. Krishnaraj R. Immunosenescence of human NK

- cells: effects on tumor target recognition, lethal hit and interferon sensitivity. *Immunol Lett* 34:79-84, 1992.
14. Agrez MV. Cell adhesion molecules and colon cancer. *Aust N Z J Surg* 66:791-798, 1996.
15. Male D. Cell migration and inflammation. In: Roitt I, Brostoff J, Male D (eds.) *Immunology*. 6th ed, Mosby, London, 2001:47-64.
16. Ashcroft GS, Horan MA, Ferguson MW. Aging alters the inflammatory and endothelial cell adhesion molecule profiles during human cutaneous wound healing. *Lab Invest* 78:47-58, 1998.
17. Chiricolo M, Morini MC, Mancini R, Beltrandi E, Belletti D, Conte R. Cell adhesion molecules CD11a and CD18 in blood monocytes in old age and the consequences for immunological dysfunction. Preliminary results. *Gerontology* 41:227-234, 1995.

Corresponding author:

I.S. Papanikolaou, M.D.
31 Vournazou St.,
115 21 Athens,
GREECE.

Tel.: 003-210-6411011. FAX: 003-210-4592460,
e-mail: ispapn@otenet.gr

Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Παπανικολάου Ιωάννης
Βουρνάζου 31,
Αμπελόκηποι,
11521, ΑΘΗΝΑ.

Τηλ.: 210-6411011, FAX: 210-4592460,
e-mail: ispapn@otenet.gr